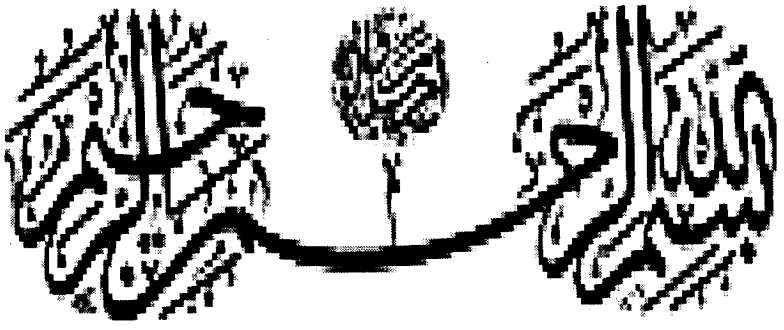
امکان نشد
تاریخ:
اپراتور:



صفی ۷۸۰۲۲۰۲۵،۲۴ حمیدرضا

۱۸۱۲۵۵

دانشگاه تربیت معلم

دانشکده علوم پایه

پایان نامه :

جهت دریافت درجه دکتری رشته زیست شناسی تکوینی جانوری

عنوان :

بررسی پتانسیل سلولهای مزوتلیوم سروزی به عنوان سلولهای بنیادی

اساتید راهنما :

دکتر احمد حسینی

دکتر علی اکبر پورفتح اله

استاد مشاور:

جناب آقای دکتر مسعود سلیمانی

نگارش :

طاهره فروتن

اسفند ۱۳۸۸

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
پژوهشگاه علوم و فناوری اطلاعات ایران
مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران
IRANDOC

۱۵۱۶۵۵

۹ ۳۳۸/۱۳۱

بسمه تعالی

"صورتجلسه دفاع از پایان نامه"

با یاری خدای متعال ، جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد خانم طاهره فروتن دانشجوی رشته زیست شناسی جانوری گرایش تکوینی ، تحت عنوان ؛**بررسی پتانسیل سلولهای مزوتلیوم مایع سروزی به عنوان سلولهای بنیادی** ؛ با حضور هیات داوران در ساعت ۱۵ روز چهار شنبه ۸۸/۱۲/۱۹ در محل دانشگاه تربیت معلم تشکیل شد. پس از ایراد خطابه دانشجو و پاسخگویی به سوالهای حاضران، هیات داوران بعد از بحث و بررسی و با توجه به کیفیت و کمیت تحقیق و نحوه ارائه کتبی و شفاهی ، رساله نامبرده را با نمره ( ) و با درجه پذیرفت.

اساتید راهنما:

دکتر احمد جسینی

دکتر علی اکبر پور فتح اله

داور خارجی:

دکتر علیقلی سبحانی

داور داخلی:

مدیر گروه زیست شناسی رئیس دانشکده علوم

تقدیم به:

چکیده

مقدمه: سلول‌های بنیادی stem cells ، سلول‌های ابتدایی و تمایز نیافته‌ای هستند که قابلیت تکثیر فراوان داشته و توانایی تشکیل سلولی کاملا شبیه به خود self renewal را دارند و به طور متوالی توسط تقسیم سلولی تجدید میشوند. این سلول‌ها تحت شرایط فیزیولوژیکی یا آزمایشگاهی خاص، القا شده و می‌توانند سلول‌هایی با اعمال تخصصی ایجاد کنند (differentiation). به عنوان نمونه می‌توانند به سلولهای ماهیچه‌ای قلب یا سلول‌های تولیدکننده انسولین تبدیل شوند. به لحاظ توانایی فوق از آنها در درمانهای ترمیمی (regenerative medicine) استفاده گردیده و تاکنون منابع مختلفی برای آنها تعریف شده است. از حدود ۳ سال پیش به اینطرف در ایران از روش موفق دیالیز سروزی بعنوان جانشین روش همودیالیزدر درمان بیماران کلیوی استفاده می شود. وجود گزارشاتی در مورد مشاهدهٔ بافتهای مختلف بصورت اکتوپیک در این پرده و همچنین فرضیهٔ پروژنیتور بودن سلولهای مزوتلیومی پرده سروزی ما را بر آن داشت تا با روشهای مختلف این احتمال را موردبررسی قرار دهیم.

مواد و روشها: پس از سانتریفوژ مایع حاصل از دیالیز سروزی بیماران جنس مذکر، پلاک سلولی بدست آمده در محیط کشت DMEM به مدت یک هفته کشت داده شد . سپس با استفاده از ایمنوفنوتایپینگ ، RT-PCR وفلوسیتومتری برخی از مارکرهای سطحی از جمله CD34,HBME-1,CD271,CD133, مورد ارزیابی قرار گرفتند. سلولها در محیطهای اختصاصی استخوان ونورون کشت داده شدهو برای فاکتورهای مشخص کننده استخوان ونورون مورد سنجش قرار گرفتند.

یافته ها: نتایج این تحقیق نشان داد که کشت های متوالی سلولهای مزوتلیالی حاوی جمعیتی از سلولهای شبه فیبروبلاست بودند. سلولهای پاساژ چهار ضمن اینکه مارکر HBME-1 را بیان نمودند، به لحاظ بیان سیتوکراتین ۱۸ نیز مثبت بودند و همچنین درجات متفاوتی از بیان مارکرهای تایید کنندهٔ سلولهای بنیادی را نشان دادند. این سلولها توانایی تمایز به دو ردهٔ استئوبلاستی و نورونی را از خود نشان دادند و برای مارکرهای استئوپونتین ،الکالین فسفاتاز، آلیزارین رد، نستین، توبولین ۳ مثبت بودند.

نتیجه گیری: بنظر می رسد سلولهای مزوتلیالی ویژگیهای حد واسطی از سلولهای بنیادی بالغ و جنینی را از خود نشان می دهند، لذا برخی از خصوصیات دسته اول و برخی از مشخصات دسته دوم را ارائه می دهند.

کلید واژگان: سلولهای بنیادی، تمایز سلولی، مزوتلیوم، دیالیز سروزی

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه ۱

فصل دوم : مروری بر پیشینه پژوهش

۲-۱ سلول بنیادی ۷

۲-۱-۱ ویژگی‌های اصلی و عمومی سلول‌های بنیادی ۷

۲-۱-۲ انواع سلول‌های بنیادی ۹

۲-۱-۳ انعطاف پذیری سلول‌های بنیادی بالغ ۱۶

۲-۱-۴ کنترل رفتار سلول‌های بنیادی ۱۶

۲-۱-۵ کاربرد مطالعه سلول‌های بنیادی ۱۷

۲-۲ استفاده از سلولهای بنیادی در سلول درمانی ۲۰

۲-۳ سلولهای مزوتلیال پرده پریتونئوم ۲۳

۲-۳-۱ ساختمان و محل سلولهای مزوتلیال پرده پریتونئوم ۲۴

۲-۳-۲ نقش سلولهای مزوتلیال ۲۶

۲-۳-۳ باز سازی و تمایز سلولهای مزوتلیال ۲۷

۲-۳-۴ منشاء سلولهای مزوتلیال پریتونئال در طی ۲۸

۲-۳-۵ مزوتلیوم ؛ منبع سلولهای بنیادی مزانشیمال ۲۹

۲-۳-۶ دیالیز سروزی ۳۳

۲-۴ ۹

۲-۴-۱ ماهیت کلی سلول های بنیادی مزانشیمال ۳۴

۲-۴-۲ مصارف درمانی سلولهای بنیادی مزانشیمی ۳۵

فصل سوم : مواد و روشها

لیست مواد و تجهیزات ۳۹

آماده سازی محلولها و بافرها ۴۱

تهیه محیطهای کشت ۴۳

کشت سلولهای مزوتلیالی ۴۳

تست ایمونوفنوتایپینگ ۴۴

آنالیز نمونه ها توسط دستگاه فلوسیتومتری ۴۶

روش PCR ۴۸

وسترن بلات ۵۶

استخراج RNA ۶۰

واکنش RT-PCR ۶۱

فصل چهارم : تجزیه و تحلیل

کشت سلولهای بدست آمده از سانتریفوژ مایع سروزی ۶۷

سنجش کلونی مشتق از سلولهای مزوتلیومی ۷۲

RT-PCR ژنهای مربوط به سلولهای مزوتلیومی ۷۳

نتایج حاصل از Western blot ۷۷

ایمنوفنوتایپینگ سیتوکراتین ۱۸ ..... ۷۸

رنگ آمیزی آلیزارین رد ۷۷

فلوسیتومتری ۷۹

فصل پنجم: بحث ۸۰

منابع ۹۵

فصل

اول

مقدمه

فصل اول
صفحه مقدم

تحقیقات انجام شده در مورد استفاده از سلولهای بنیادی در درمان ترمیمی شروع یک انقلاب بود که توسط آن رویکردهای درمانی نه تنها در مورد بیماریهای ناشی از فقدان ا ندام تغییر داده شد، بلکه سرنوشت و کیفیت زندگی میلیونها بیمار را نیز تحت تأثیر قرارداد. استفاده از سلولهای بنیادی برای درمان بیماریها وصدمات وارده به بافتها در بسیاری از موارد یک راه حل مناسب می باشد.

به منظور استفاده موفقیت آمیز از این سلولها در درمان بیماریها، لازم است که این سلولها به درستی جدا شوند، به تعداد کافی تکثیر یابند و خصوصیات خود را بعد از تکثیر حفظ کنند.

مبحث سلولهای بنیادی از اوایل سال ۱۹۰۹ میلادی مطرح گردید. سلولهای فوق بوسیله ویژگیهای خود تجدیدی و همچنین توانایی تمایز به رده های مختلف سلولی مشخص می گردند. اخیرا" ثابت گردیده که اکثریت بافتهای بالغ دارای سلولهای بنیادی ویژۀ بافتی می باشند که در صورت فرسودگی بافت،می توانند با عملکرد و نقش جایگزین، بکار گرفته شوند. صرف نظر از منشا بافت، تمامی سلولهای فوق دارای عملکرد مشترک به لحاظ حفظ و نگهداری شرایط هومئوستازی بافتها می باشند.

در دهه گذشته سلولهای بنیادی مزانشیمی به عنوان گزینه برتر در امر ژن درمانی و سلول درمانی شناخته شده بود. این سلولها مانند تمامی سلولهای بنیادی دارای دو ویژگی ذکر شده بوده و توانایی تمایز به بافت های مختلف مزانشیمی از قبیل استخوان، غضروف، چربی و ماهیچه را دارا می باشند.خصوصیات منحصر به فرد این سلولها مانند توانایی چند قابلیتی، قابل دسترس بودن، جداسازی راحت، تکثیر سریع آن ها در محیط کشت، توانایی مهاجرت به بافتهای آسیب دیده و القاء

یا تحریک تمایز سلولی در پاسخ به سیگنالهای محیطی سبب شده است تا از این سلولها در درمان ومهندسی بافت استفاده گردد.

علی رغم اینکه تا کنون محققین موفق به استخراج سلولهای بنیادی از منابع متعددی از جمله بافت چربی، قرنیه،خون محیطی، مغز استخوان... گردیده اند، اما به لحاظ مسئله رد پیوند اشتیاق به یافتن منابع جدیدتر همچنان انگیره قوی برای آنان محسوب می گردد.

سلولهای مزوتلیال، پوشش داخلی پرده پریتونئوم را تشکیل می دهند و در بقا و عملکرد آن نقش مهمی دارند. این سلولها به لحاظ موقعیت مکانی، خواص ترشحی،توانایی ترمیم regeneration و transdifferentiation موضوع مطالعه چندین سال اخیر بوده اند.

سلولهای مزوتلیال ظرفیت بازسازی بالایی دارند. آسیب به پریتونئوم می تواند نتیجه جراحی، پریتونیتیس و یا دیالیز صفاقی باشد که بازسازی آن ظرف مدت ٢٤ ساعت پس ازآسیب صورت می پذیرد و بعد از ٧-١٠ روز پایان می پذیرد.

گزارشات مختلفی در مورد توانایی تشکیل سلول شبه فیبروبلاستی، سلول عضلانی صاف، کندروسیت، استئوبلاست، چربی و نورون از سلولهای پروژنیتور موجود در حفره پریتونئال انتشار یافته است .

سلولهای مزانشیمی پر توان pluripotent بعنوان سلولهای پیش ساز مزوتلیوم پیشنهاد شده است. گر چه هنوز بطور قطعی یک سلول مزوتلیال بعنوان سلول بنیادی تعریف نشده است، احتمال حضور سلولهای مزانشیمال pluripotent در لایه مزوتلیال پردهٔ سروزی و هم چنین بافت همبند زیرین آن بطور مکرر در مقالات مختلف ذکر گردیده است. در واقع این مشاهدات افق جدیدی را در استفاده از این سلولها در درمان ترمیمی می گشاید.

برای بدست آوردن سلولهایی با خاصیت خود تجدیدی ، سلولهای بنیادی دستخوش تقسیم متقارن symmetric division و یا نامتقارن asymmetric division می شوند. در نتیجه حالت اول، هر دو سلول دختری تمام خواص سلول بنیادی را به ارث می برند، در حالی که در تقسیم نوع دوم یکی از دو سلول دختری سلول بنیادی خواهد شد و دیگری سلولی با ظرفیت محدود تقسیم به نام سلول پروژنیتور را بوجود می آوردکه سر نوشت آن برای تمایز نهایی رقم خورده است.

آخرین فرضیات در مورد ماهیت سلولهای پوشاننده پرده پریتونئوم، اطلاق کلمه پروژنیتور در مورد آنها بوده است. در پروژه حاضرسعی گردیده با بکار گیری تکنیکهای مختلف سلولی و مولکولی با شفافیت بیشتری در مورد ماهیت این سلولها به عنوان یک سلول پیش ساز و یا سلول بنیادی اظهار نظر نمود.

فرضیات:

سلولهای پوشاننده پرده مزوتلیوم قابلیت کشت طی پاساژهای مختلف را داشته و در واکنشهای ایمونولوژیک ماهیت سلو لهای مزوتلیومی را تایید می نماید.

سلولهای مورد نظر ویژگیهای مورفولوژیک یک سلول پوششی را از خود نشان می دهد و در تستهای ایمونوفنوتایپینگ این موضوع تایید می گردد.

مارکرهای سطحیِ سلولهای بنیادی با منشاء مغز استخوان در این سلولها بیان می گردد.

مارکرهای سلولهای بنیادی با منشاءجنینی را بیان نمیکنند. اما پیش بینی می گردد مشابهت ها یی بین این سلولها و سلولهای بنیادی جنینی وجود داشته باشد.

این سلولها در محیطهای کشت اختصاصی توانایی تمایز به رده های مختلف سلولی را دارد

آزمایشات سلولی و مولکولی تمایز به رده های سلولی را تایید می نماید

اهداف :

-بررسی بیان مولکولهای HBME-1 جهت اثبات مزوتلیوم بودن این سلولها

- بررسی منشا اپی تلیالی و یا مزانشیمی این سلولها

- ارزیابی مولکولهای سطحی سلولهای پاساژ های ۳-٤ به عنوان سلول بنیادی جنینی و یآ بالغ

- ارزیابی بیان پروتئینهای تایید کننده تمایز به سلولهای استخوانی و نورونی

مروری بر

پیشینه

پژوهش

۲-۱ سلول بنیادیstem cell

دو ویژگی مهم، سلول‌های بنیادی را از دیگر سلول‌ها متمایز می‌سازد:

سلول‌های بنیادی سلول‌های ابتدایی و تمایز نیافته‌ای هستند که قابلیت تکثیر فراوان داشته و توانایی تشکیل سلولی کاملا شبیه به خود را دارند و خود را به طور متوالی توسط تقسیم سلولی تجدید می‌کنند (Self renewing).

این سلول‌ها تحت شرایط فیزیولوژیکی یا آزمایشگاهی خاص، القا شده و می‌توانند سلول‌هایی با اعمال تخصصی ایجاد کنند. به عنوان نمونه می‌توانند به سلولهای ماهیچه‌ای قلب یا سلول‌های تولید کننده انسولین پانکراس تبدیل شوند(۱).

۲-۱-۱ ویژگی‌های اختصاصی و عمومی سلول‌های بنیادی

تمام سلول‌های بنیادی صرف نظر از منبع آنها، دارای برخی ویژگی‌های مشترک هستند که به قرار زیرمی باشند:

- فاقد ساختارهای ویژه بافتی‌اند که اجازه بدهد سلول عمل ویژه‌ای را انجام دهد. در نتیجه، فاقد اعمال ویژه بافتی هستند اگرچه قادرند به سلول‌های تخصص یافته تبدیل شوند.
- سلول‌های تمایز نیافته‌ای هستند که قادر به تقسیم و تجدید خود برای مدت طولانی هستند.
- برخلاف سلول‌های دیگر مانند عضله قلب و خون که قادر به تکثیر خود نیستند، سلول‌های بنیادی می‌توانند بارها تقسیم شوند. یک جمعیت آغازی سلول بنیادی پس از ماه‌ها تکثیر در آزمایشگاه، تولید میلیون‌ها سلول می‌کند(۲).
- سلول‌های حاصل اگر تخصصی نشوند، نیز قادرند مانند والدین خود برای مدت‌ها تکثیر شوند.
- این سلول‌ها پیری را نشان نمی‌دهند و بدون محدودیت نسبی تقسیم می‌شوند.

- موضوع مهم برای دانشمندان، عوامل اختصاصی و یا شرایط ویژه‌ای است که موجب می‌شود سلول‌های بنیادی به صورت غیر تخصصی باقی بمانند.

- کاریوتیپ طبیعی خود را حفظ می‌کنند. مشخص شده است که حتی پس از ۲۸۰ بار تکثیر باز هم سلول‌های بنیادی دارای کاریوتیپ طبیعی می باشند. در حالی که معمولا سلول‌های دیگر پس از چند تقسیم در کاریوتیپ آنها تغییراتی صورت می‌گیرد. این ویژگی سلول‌های بنیادی، یکی از دلایل نامیرا بودن نسبی این سلول‌ها است(۳).

- می توانند به سلول‌های تخصصی تبدیل شوند: تبدیل سلول‌های بنیادی به سلول‌های تخصصی یافته را تمایز(differentiation) گویند. علائم درونی مانند ژن‌های سلولی، علائم بیرونی مانند ترشحات شیمیایی سلول‌های دیگر، تماس فیزیکی توسط سلول‌های مجاور و حضور مولکول‌های معین در محیط در تبدیل این سلول‌ها به سلول‌های تخصص یافته نقش دارد.

- می‌توانند در غیاب سرم تکثیر شوند.برخلاف سلول‌های دیگر که برای رشد خود نیازمند عامل‌های سرمی هستند، سلول‌های بنیادی قادرند در غیاب سرم نیز به تکثیر خود ادامه دهند .این ویژگی سلول‌های بنیادی آنها را شبیه به سلول‌های سرطانی می‌سازد .

- تابع مهار تماسی نیستند. سلول‌های بنیادی برخلاف سلول‌های دیگر تابع مهار تماسی وابسته به سطح برای تکثیر خود نمی باشند. بنابراین به تکثیر خود به صورت لایه‌های متعدد ادامه می‌دهند. در واقع در این سلول‌ها، هیچ گونه توقف چرخه سلولی و سکون وجود ندارد. این ویژگی نیز آنها را مشابه سلول‌های سرطانی می‌سازد (٤).

- دارای سطح بالای از آنزیم تلومراز هستند. تلومراز برای جلوگیری از کوتاه شدن طول تلومر در تقسیمات متعدد سلولی لازم است. طول تلومر عامل محدود کننده تقسیم سلول است. در سلول‌های عادی، در هر تقسیم سلول، مقداری از طول تلومر کم می‌شود تا سرانجام به جای می‌رسد که دیگر

سلول نمی‌تواند تقسیم شود. اما در سلول‌های بنیادی تلومراز مرتب طول را ترمیم می کنند. در نتیجه این سلول‌ها قادرند به طور نامحدود به تقسیم خود ادامه دهند. در شماری از سرطان‌ها نیز دیده شده است که تلومراز دارای فعالیت است اما در سلول‌های عادی، پس از دوران جنینی، تلومراز غیر فعال شده و تنها در سلول‌های بنیادی فعال باقی می‌ماند.

- سلول‌های بنیادی فاقد کروموزم X غیر فعال هستند. برخلاف دیگر سلول‌های مربوط به موجود مونث که در اوایل جنینی یکی از X های آنها غیر فعال می‌شود در سلول‌های بنیادی این امر رخ نمی‌دهد.

پژوهشگران با سه نوع از سلول‌های بنیادی جنینی- بند ناف و بالغ جانوری و انسانی کار می‌کنند که دارای خصوصیات متفاوت از یکدیگر هستند (۵).

۲-۱-۲ انواع سلول‌های بنیادی

بسته به منبع بیولوژیکی و کاربرد تکنیکی و میزان توانایی تمایزآنها تقسیم بندیهای متفاوتی وجود دارد :

۱. سلولهای بنیادی رویانی Embryonic Stem cell (ES)

۲.سلولهای بنیادی بالغ Adult stem Cell

۳. سلولهای سرطانی Cancer Stem Cell

البته در برخی از طبقه بندی‌هاسلولهای بنیادی جنینی Fetal Stem Cell را نیز جدای ازسلولهای بنیادی رویانی جز طبقه بندی به حساب می‌آورند. سلولهای بنیادی جنینی نیز سلول‌های پشتیبان و تمایز نیافته‌ای هستند که دارای خاصیت خودسازی و پر ظرفیتی می‌باشند و می‌توانند به سمت هر ارگانی از بدن تمایز پیدا کنند. تفاوت اینها با سلول بنیادی‌های رویانی در این است که، سلول بنیادی‌های رویانی را در هفته اول از لایه داخلی بلاستوسیست جدا می‌کنند ولی سلول بنیادی‌های

جنینی را در هفته چهارم از ستیغ گنادی که به سمت اندامهای جنسی پیش می‌روند، تهیه می‌کنند. از نظر پتانسیل و براساس میزان توانایی تمایزشان نیز سلول بنیادی‌ها را به انواع مختلف سلولی طبقه بندی می‌کنند (٦).

سلولهای بنیادی همه توان Totipotent stem cell

این دسته شامل سلول‌تخم (zygote) که به دنبال ترکیب شدن سلول تخمک و اسپرم بوجود می‌آید و سلول‌های حاصل از چند تقسیم اول تخم لقاح یافته که منجر به تشکیل توده سلول داخلی inner cell mass می شود، می باشد که به علت همه ظرفیتی بودن، می‌توانند بدون استثناء به هر نوع سلول دیگر تمایز پیدا کنند. سلول بنیادی‌های همه ظرفیتی توان تبدیل به یک موجود کامل زنده را دارند. این سلول‌ها علاوه بر سه لایه زایای جنینی توان تولید جفت یا پلاسنتا را نیز دارند (٧).

سلولهای بنیادی پر توان pluripotent stem cell

این سلول‌ها در واقع از اخلاف سلول‌های همه توان بوده و می‌توانند به هر نوع سلول دیگری بجز سلول بنیادی همه توان تبدیل شوند. سلول‌های بنیادی جنینی در واقع از این نوع می باشند. این سلول ها قادر به ایجاد کل موجود زنده نیستند ولی می‌توانند هر سه لایه زایای رویانی و سلولهای بنیادی چند توان زیر شاخه آنها را بوجود آورند. این سلول ها قادر به تولید جفت نیستند(٨).

سلولهای بنیادی چند توان Multipotent stem cell

از اخلاف سلول بنیادی‌های پر ظرفیتی بوده و تنها می‌توانند سلول‌های یک خانواده کاملا مرتبط سلولی را تولید کنند .سلولهای بنیادی بالغین از این نوع بوده و انواع مختلفی دارند .به عنوان مثال

سلول بنیادی هماتوپوئیتیک و سلولهای بنیادی مزانشیمال از این نوع بوده و به ترتیب توان تبدیل به انواع سلول‌های خونی شامل گلبول‌های قرمز و سفید و پلاکت‌ها و انواع سلول‌های غضروف، استخوان، عضله و ....را دارد(۹).

سلولهای بنیادی تک توان و یا متعهد unipotent stem cell or committed

تنها یک نوع سلول تولید می‌کنند ولی می‌توانند خودشان را نیز تکثیر کنند، خاصیتی که سلول‌های غیر بنیادی آن را ندارند. سلول های بنیادی مختص بافتی (برای اهداف ترمیمی) از این دسته هستند. در مورد سلول‌های بنیادی جنینی (Embryonic Stem Cell) ، در سال 1981، دانشمندان موفق به کشف راه‌هایی برای به دست آوردن این سلول‌ها از جنین موش در اوایل مراحل جنینی شدند. مطالعه روی این سلول‌ها پس از دو دهه، سرانجام در سال 1998 دانشمندان را قادر به جداسازی سلول‌های بنیادی از جنین انسان و کشت این سلول‌ها در آزمایشگاه کرد. در نوامبر این سال James Thomson توانست تعداد ۵-٦ رده سلول بنیادی جنینی مستقل را از جنین انسان بدست آورد(۱۰).

برای این نوع از سلول‌های بنیادی سه منبع وجود دارد :

۱. توده سلولی داخل رویانهای انسانی در مرحله بلاستوسیست (Inner cell mass of human

۲. بافت جنین سقط شده (aborted fetal tissue)

۳. انتقال هسته سلول‌های سوماتیک (somatic cell nuclear transfer)

سلول‌های بنیادی جنینی از جنینهای با طول عمر ۳ تا ۵ روزه (کمتر از یک هفته) مشتق می‌شوند. برای تولید سلول‌های بنیادی جنینی باید توده سلولی داخلی را جدا کرد. برای این منظور دو روش ایمنی جراحی و مکانیکی وجود دارد. در روش اول از پادتن سلول‌های بیرونی (تروفوبلاست)

استفاده می‌شود، در حالی که پادتن به سلول‌های بیرونی متصل می‌شود، به سلول‌های درونی نیزمتصل می‌مانند. در روش مکانیکی، از آنجا که رشد تروفوبلاست در محیط آزمایشگاه، دو بعدی (در سطح) و رشد توده درونی، سه بعدی و به سمت بیرون است در نتیجه به راحتی می‌توان با یک پیپت توده سلولی درونی را جدا کرد. قابل ذکر است که ۲۰ سال طول کشید تا دانشمندان یاد بگیرند چگونه سلول‌های بنیادی را در آزمایشگاه بدون این که تمایز یابند، کشت دهند(۱۱).

ES های انسانی سلول‌هایی پهن با کلنی‌های متراکم هستند که به آسانی در اثر مجاورت با تریپسین یا محیط عاری از +Ca2 و +Mg2 به سلول‌های واحد باز می‌شوند. ES های انسانی در مقایسه با ES موشی رشد آهسته‌تری دارند به طوری که دوبلینگ تایم جمعیت انسانی تقریبا ۳۶ ساعت طول می‌کشد، حال آنکه این رقم در مورد جمعیت موشی تقریبا ۱۲ساعت است. برای عدم تمایز ESهای انسانی در شرایط in vitro از محیط کشت عاری از سرم در حضورFGF یا از محیط کشت سرم دار در حضور لایه سلول‌های Feeder فیبروبلاستی استفاده می‌شود که این لایه از تمایز آنها جلوگیری می‌کند. درحالی که در موش از LIF (Leukemia inhibitory factor) بدین منظور استفاده می‌شود. ES های انسانی در مقایسه با ES موشی سطح بالایی از تلومراز و Oct-4 را بیان می‌کنند.

در شرایط in vitro سلول‌های ES توانایی تبدیل به سلول‌های زیر را دارند (۱۲):

هپاتوسیت، سلول پانکراس بتا، سلولهای دندریتیکی، سلولهای بنیادی خونساز، استئوبلاست و استئوکلاست، سلولهای عضلانی و کاردیومیوسیت، سلولهای چربی، سلولهای اندوتلیالی، سلولهای ملانوسیت و کراتینوسیت

سلول‌های بنیادی بالغ یا سوماتیک Adult or somatic stem cell